ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in Prunus Laurocerasus L.

von

K. Peche.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Universität in Wien, Nr. 26 der II. Folge.

(Mit 1 Tafel und 1 Textfigur.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Jänner 1912.)

I. Historisches.

Trotz einer großen Anzahl makrochemischer Nachweise der Blausäure in Pflanzen (1), respektive Blausäure abspaltender Glykoside und trotz des großen Interesses, das die Stoffe heute in der Pflanzenphysiologie erregen, wissen wir doch nur sehr wenig über deren Lokalisation. Speziell von chemischer Seite wurden fast nur die Blausäurebindungsart und die Blausäure abspaltenden Enzyme berücksichtigt. Nur Treub befaßte sich genauer mit dem mikrochemischen lokalen Nachweise der CNH in *Pangium edule* (2). Guignard L. suchte sich hinwiederum über die Lokalisation der Blausäure abspaltenden Glykoside in *Prunus Laurocerasus* (3) klar zu werden. Ich komme später noch auf diese Arbeit zurück.

Nach Treub findet sich die Blausäure in *Pangium edule* lokalisiert vornehmlich im Baste sowohl der jungen als auch der alten Pflanzen, und zwar in allen Organen. Außerdem fand Treub sehr viel CNH in den »cellules spéciales«, d. s. Zellen im Mark und in der Rinde, vornehmlich in den jungen Zweigen, die sehr viel Blausäure enthalten neben einem eiweißartigen Inhaltskörper, der die ganze Zelle ausfüllt. Reichlich Blausäure enthalten auch die Haarbasal- und die Calciumoxalatdrusen-

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

zellen der Epidermis, weswegen Treub meinte, man müsse diese Elemente nicht nur für die Hauptablagerungsorte, sondern auch für die Entstehungsherde der CNH halten (l. c., p. 18):

»Dans l'épiderme du limbe il y a deux sortes d'éléments qui constituent non seulement des dépositaires de CNH, mais que nous devons envisager en premier lieu comme laboratoires où le principe se forme. Cela explique l'intérêt spécial qui, pour nous, se rattache à ces éléments; ce sont: les cellules basilaires de poils et les cellules à mâcles cristalins.«

Nach Treub besteht nun eine deutliche Abhängigkeit der Blausäureentwicklung von der Blattbeleuchtung, wie er im physiologischen Teile seiner Arbeit über *Pangium*, aber auch bei *Phaseolus lunatus* (4) nachweist, und da sich nun nach seiner Meinung bei der Transpiration, die im Lichte stärker ist, das Calciumoxalat in Drusen abscheidet, bringt er Drusenbildung und Blausäureabscheidung mit Bezug auf seine mikrochemischen Befunde in einen bis zu einem gewissen Grade verständlichen Zusammenhang und behauptet nun, daß die Calciumoxalatzellen der Sitz der Blausäurebildung seien und nicht das Mesophyll. In dieser Deutung wurde er bestärkt durch die Unmöglichkeit, im Mesophyll eine strenge Lokalisation zu entdecken. Die Spezialzellen hingegen faßte er nur als Magazine für allgemeinen und lokalen Bedarf der Pflanze an Blausäure auf.

II. Nachweis der Blausäure.

1. Die Berlinerblauprobe.

Treub bediente sich auf Anraten Greshoff's hin nur einer einzigen Reaktion zum Nachweise der CNH, der Berlinerblaureaktion, die er sehr empfindlich und sehr brauchbar fand. Nachfolgend sein Rezept, das sich aus folgenden drei Teilen zusammensetzt:

I. Zu 20 Volumteilen einer 20prozentigen wässerigen Kaliumhydroxydlösung fügt man 80 Volumteile etwa 90prozentigen Alkohols. Die Lösung ist nur kalt anzuwenden und darf nur einen Moment einwirken.

II. 2·5prozentige Ferrosulfatlösung in Wasser mit 1prozentiger wässeriger Ferrichloridlösung zu gleichen Teilen vor dem Gebrauch gemischt und auf Siedetemperatur erhitzt. Die Pflanzenteile bleiben in der Lösung etwa 5 bis 15 Minuten. Nach jedesmaligem Gebrauch ist die Lösung zu erneuern.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

III. 20prozentige wässerige Salzsäurelösung. Das Reagens ist kalt anzuwenden und die Einwirkungsdauer beträgt 5 Minuten.

Für meine Versuchspflanze *Prunus Laurocerasus* fand ich es gleichgültig, ob die Lauge alkoholisch oder wässerig war. Bessere Resultate erhält man mit stärkeren Lösungen von etwa 10 bis 20%. Die Einwirkungsdauer aber darf nicht länger werden, als Treub angab, wenn man ein sicheres Resultat erlangen will.

Die Eisenlösungen sind ebenfalls besser in höherer Konzentration anzuwenden, etwa 20 bis 30%, vornehmlich die Eisensulfatlösung. Länger als 5 Minuten sollen bei dieser Pflanze die Präparate nicht in der Flüssigkeit liegen, weil sonst eine allzu starke Gerbstoffreaktion das Bild verwischt und leicht Mazeration eintritt. Die Eisenlösungen sind getrennt und das Sulfat überdies im Dunkeln aufzubewahren, da sonst die Ferriform ausfällt. Die von Treub angegebene Salzsäurekonzentration ist am besten.

Um in den Blättern nach Art der Sachs'schen Jodprobe Blausäure nachzuweisen, klopft man sie möglichst rasch und gleichmäßig mit einer Bürste und taucht sie dann in die Lösungen der Reihe nach in den angegebenen Zeitintervallen ein. Durch die Wunden können die Reagentien eindringen, worauf diese Wunden nach der Behandlung bei genügendem Blausäuregehalt blau gerändert werden. Auf solche Weise gelang Treub bei einer großen Anzahl von Pflanzen der Blausäurenachweis. Vor allem ist die Methode empfehlenswert zum vergleichenden Studium. Auch bei *Prunus Laurocerasus* gelingt diese Probe sehr gut, wenngleich in viel geringerer Intensität wie bei *Pangium* und *Phaseolus lunatus*.

Treub wandte auch die Berlinerblaureaktion auf Schnitte an. Beim Kirschlorbeer ist dies nicht so ohne weiteres möglich, sondern man muß die Blätter in kleine Stücke rasch zerschneiden, sofort in obiger Weise behandeln, hierauf auswaschen und in Alkohol härten. Von den gebläuten Rändern lassen sich dann sehr leicht schöne Schnitte herstellen. Desgleichen schneidet man Äste in kürzere oder längere Stücke oder spaltet sie; von solchen Präparaten lassen sich ebenfalls leicht Schnitte herstellen.

Treub untersuchte eine sehr blausäurereiche Pflanze und fand daher die Berlinerblauprobe genügend empfindlich. Anders verhält es sich bei *Prunus Laurocerasus*, da die oft sehr kleinen CNH-Mengen, wenn sie überhaupt noch reagieren, nur noch eine ganz schwache Grünfärbung ergeben, die kaum wahrnehmbar ist. Da sich überdies das Berlinerblau in der

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Lauge löst, färben sich nicht nur der ganze Zellinhalt, sondern auch alle Membranen blau. Das sind nun zweifellos sehr bedeutende Nachteile.

2. Eine neue mikrochemische Reaktion auf Blausäure.

Daher ergab sich die Notwendigkeit, eine andere Reaktion für den mikrochemischen Gebrauch einzuführen, nämlich die Reduktion des Mercuronitrates durch CNH zu metallischem Quecksilber unter Ausscheidung von weißem wasserlöslichen Mercuricyanid.

$$Hg_2(NO_3)_2 + 2KCN = 2KNO_3 + Hg(CN)_2 + Hg.^1$$

Das ausfallende Quecksilber ist unter dem Mikroskop schwarz. Dadurch, daß das Quecksilbersalz kalt angewendet wird und sehr rasch in die Gewebe unter gleichzeitiger Fixierung derselben eindringt, kann die Blausäure nicht entweichen und wird gleich am Orte ihres Freiwerdens durch das ausfallende Quecksilber nachgewiesen.

Stützen für die Eindeutigkeit der Reaktion:

Da es sich bei der Ausfällung des Quecksilbers aus dem Mercuronitrat durch die CNH um eine Reduktion handelt, wurde zum Vergleiche hauptsächlich die Carbonyl-, die phenolische Hydroxyl- und Aminogruppe berücksichtigt.

I. Die Carbonylgruppe reduziert Mercuronitrat nur in der Wärme.

II. Phenolisches Hydroxyl reduziert Mercuronitrat nur unter Bildung gelbbrauner Niederschläge und erst nach längerer Einwirkung scheidet sich in einzelnen Fällen Quecksilber aus. Gerbstoffzellen von *Echeveria, Sambucus, Prunus Padus* etc. werden nach längerer Einwirkung gelbbraun; *Prunus Padus* muß aber blausäurefrei sein. Der ruhende Vegetationspunkt von *Prunus Padus*, welcher keine freie Blausäure enthält, wird gelbbraun, überzogen mit einer Schichte weißer Quecksilbersalze, während der von *Prunus Laurocerasus* sofort dunkelgrau wird, obwohl beide ähnliche Gerbstoffe in gleicher Quantität enthalten etc.

[1] Treadwell, Lehrbuch der analyt. Chemie, 5. Aufl., 1. Bd., p. 265.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

III. Aminosäuren reduzieren $Hg_2(NO_3)_2$ kalt nur nach langer Einwirkung.

IV. Das mit Wasser mazerierte Gereibsel einer bitteren Mandel wird mit Mercuronitrat versetzt sofort (!) braunschwarz, das einer süßen Mandel nach längerer Zeit kaum lichtgrau.

Jedenfalls tritt binnen wenigen Sekunden Ausfällung von metallischem Quecksilber ein, wenn Blausäure zugegen ist, was ein gutes Kennzeichen für die Deutung der Reaktion ist. Trotzdem aber ist es rätlich, um jeder Täuschung vorzubeugen, immer die Berlinerblauprobe zum Vergleiche zu machen. Nachstehende Resultate sind aus solchen vergleichenden Versuchen gezogen und auf alle Ergebnisse, die ganz oder doch zum größten Teile auf der Hg-Probe basieren, habe ich besonders aufmerksam gemacht.

Verwendet wurde eine 3prozentige Mercuronitratlösung die sich für unsere Versuchspflanze am besten erwies. Geringer- oder höherprozentige Lösungen sind weniger geeignet. Hervorzuheben ist, daß das Reagens nur kalt anzuwenden ist.

Nach Art der Treub'schen Komparationsmethode kann man die mit der Bürste geklopften Blätter auch mit $Hg_2(NO_3)_2$ behandeln, worauf man schwarze Punkte statt der blauen erhält.

Am besten ist die Methode an Schnitten anwendbar. Man macht rasch nicht allzu dünne Schnitte durch Blätter oder Stengel unter starker Befeuchtung des Messers und des Objektes mit dem Reagens und läßt in diesem die Schnitte etwa 1 bis 2 Minuten liegen, worauf man sie in destilliertem (!) Wasser auswäscht. Hierauf können sie in Glyzerin oder Kanadabalsam eingelegt werden. Besonders letztere Methode bietet oft nicht unbedeutende Vorteile.

Betont sei ein rasches Schneiden und stetes Feuchthalten der Schnittfläche mit dem Reagens. Ich bediente mich mit großem Vorteile eines Schlittenmikrotoms mit automatischer Hebung. Auf diese Weise erhält man äußerst rasch eine große Anzahl gleichmäßiger Schnitte. Da das Messer amalgamiert wird, ist es immer sorgfältig abzuwischen, andernfalls wird das Quecksilber leicht auf der Schnittfläche verschmiert, wodurch CNH-Vorkommen an Stellen vorgetäuscht wird, die CNH-frei sind.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

3. Lokalisation der Blausäure

in den Organen von *Prunus Laurocerasus.*

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die Verteilung der Blausäure in den Organen, wie sie sich mir auf Grund zahlreicher mit Treub's Berlinerblau und meiner Mercuronitratmethode hergestellten Präparaten darbot. Gleichzeitig ist in der Tabelle von dem Nachweise eines Gerbstoffes und von Eiweiß die Rede, worauf ich noch später zurückkomme.

Tabelle über die Lokalisation der Blausäure, eines Gerbstoffes und von Eiweiß in den Organen von Prunus Laurocerasus L.

	Blausäure	Gerbstoff	Eiweiß
A. Blätter.			
Obere Epidermis	sehr wenig	sehr wenig	—
Untere Epidermis	reichlich	reichlich	—
Palisaden	wechselnd	die meisten Zellen	—
Schwammparenchym	reichlich fast in allen Zellen	reichlich fast alle Zellen	viele Zellen
Gefäßbündelscheiden	sehr reich	sehr reich	sehr reich
Collenchym der Blattrippen	wechselnd	einzelne Zellen	—
Bastteil der Gefäßbündel	sehr reich	sehr reich	sehr reich
Holz	—	—	—
Holz-Markstrahlen	viel	viel	?
B. Zweige.			
Epidermis	reich	sehr reich	?
Periderm	reich	sehr reich	—
Primäre Rinde	Spezialzellen	Spezialzellen	Spezialzellen
Hartbast	—	—	—
Weichbast	viel	wenig	viel
Markstrahlen desselben	sehr viel	sehr viel	?
Cambium	sehr viel	wenig	sehr viel
Holz	—	—	—
Holz-Markstrahlen	wenig	wenig	—
Protoxylem	wenig	viel	?
Mark	Spezialzellen	Spezialzellen	Spezialzellen
C. Vegetationspunkt	Spezialzellen	Spezialzellen	Spezialzellen
D. Wunden	viel	sehr viel	—

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Aus obiger Tabelle ergeben sich:

A. Beobachtungen an Blättern.

Wie früher erwähnt wurde, gelang es Treub nicht, eine genaue Lokalisation der CNH in den Blättern von *Pangium* zu erlangen, einerseits wegen des allzu großen Blausäuregehaltes seines Objektes, andrerseits wegen der Ungenauigkeit seiner Methode. Da besagte Nachteile weder für die Hg-Methode noch für *Prunus Laurocerasus* gelten, gelingt der Nachweis besser bei dieser Pflanze.

Da diese keine Haare besitzen, war eine Kontrolle der diesbezüglichen Angaben Treub's für unsere Pflanze unmöglich. Bezüglich der Calciumoxalatzellen sei bemerkt, daß solche beim Kirschlorbeer in der Epidermis nie vorkommen und daß die im Mesophyll befindlichen keine CNH enthalten.

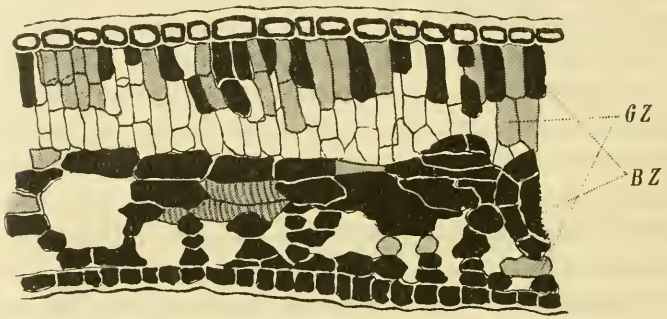
Im Palisadengewebe kann man zwar mittels Berlinerblaureaktion CNH nachweisen, doch wird durch die Reagentien der Zellinhalt vollständig zerstört. Auch wird das Berlinerblau so stark von den Zellwänden absorbiert, daß man nicht zu sagen vermag, ob alle oder nur einige Zellen Blausäure enthalten und ob der Gehalt verschieden oder gleichmäßig ist. Ferner ist es unmöglich, anzugeben, ob die Blausäure im Plasma oder im Zellsafte vorkommt, was für die Beantwortung der Frage nach der Entstehung der CNH von großer Wichtigkeit ist.

In dieser Beziehung zeigt sich die Mercuronitratreaktion der Treub'schen Probe überlegen, da bei ihr alle diese Mängel wegfallen. Mit ihrer Hilfe kann man in Schnitten sehr leicht zeigen, daß der Gehalt des Palisadengewebes sowie auch der anderen Elemente an Cyanwasserstoffsäure sehr verschieden ist, und zwar erscheint er abhängig von der vorausgegangenen Belichtung. Daß der Blausäuregehalt überhaupt vom Lichte abhängig ist, hat Treub bei sehr vielen Pflanzen nachgewiesen. Interessant aber ist es, daß nicht alle Palisadenzellen gleichviel Blausäure enthalten, starke Assimilation vorausgesetzt. Es fallen vielmehr Zellen auf, die besonders reich an dem Stoffe sind, während andere fast gar nichts davon enthalten.

Bei stärkerer Vergrößerung bemerkt man, daß Cyanwasserstoffsäure im Zellsafte niemals, sondern nur im Plasma enthalten

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

ist und da sind es wieder nur die Chlorophyllkörner, die durch die Hg-Reaktion geschwärzt werden. Die Schwärzung ist jedoch nur dann so intensiv, wenn das Blatt stark assimiliert hatte. Dabei ist sie nicht gleichmäßig, wie die Silberreduktion durch Aldehyde, die bei unserer Pflanze sehr gut gelingt, sondern bloß eine teilweise. Auf der Oberfläche der Körner lassen sich nämlich bei gut geglückter Reaktion kleine Quecksilberkügelchen unterscheiden, die überdies noch in der nächsten Umgebung der Chlorophyllkörner zu finden sind. Die Zahl der Kügelchen ist abhängig von der vorausgegangenen Belichtung, so daß man alle Stadien vom tiefsten Dunkel bis zum vollständigen Verschwinden der Reaktion auffinden kann.



Schema der Blausäurelokalisation in den Blättern. *BZ* Blausäure-, *GZ* Gerbstoffzellen.

Dieses Verhalten zeigen nicht nur die blausäurereichen Zellen, sondern auch die weniger blausäurehaltigen, wenngleich in weit geringerem Grade. Und was die Lokalisation des Blausäurenachweises auf die Chlorophyllkörner anlangt, so kann man gerade dazu die blausäureärmeren Blätter besonders empfehlen, da dann die Blausäurearmut die betreffenden Verhältnisse um so klarer hervortreten läßt.

Vorausgesetzt, die Blausäure wäre das erste Produkt der Stickstoffassimilation, dann würde das soeben beschriebene Verhalten zeigen, daß in normaler Weise diese Synthese an das Chlorophyllkorn gebunden ist, sei es, daß das Chlorophyllkorn aktiv eingreift, sei es, daß hier die für die CNH-Bildung nötigen Stoffe geliefert werden. Freilich ist es nicht vollständig

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

ausgeschlossen, daß die Chlorophyllkörner vielleicht ein exquisites Speicherungsvermögen für Blausäure besitzen und sich im Momente der Tötung mit dem Stoffe beladen. Für meine Person erscheint mir jedoch, insbesondere im Hinblick auf die rasche Präparation und Tötung der Zellen, die erste Deutung als die wahrscheinlichere.

Im Schwammparenchym werden durch die Berlinerblaureaktion fast alle Zellen blau, doch bemerkt man einzelne Zellen, die besonders intensiv gefärbt werden. Im allgemeinen zeigt diese Reaktion, daß das Schwammparenchym mehr CNH enthält als das Palisadengewebe. An Präparaten nach der Mercuronitratmethode sieht man, daß hier die Lokalisation in den meisten Zellen eine andere ist als im Palisadengewebe, da hier der ganze Zellinhalt gleichmäßig geschwärzt wird.

Mit der Frage der Lokalisation der Blausäureglykoside in *Prunus Laurocerasus*-Blättern hat sich, wie oben erwähnt wurde, L. Guignard befaßt. Daß die durch Destillation aus Kirschlorbeerblättern erhaltene Cyanwasserstoffsäure durch Enzymwirkung aus cyanogenen Glykosiden abgespalten wird, ist sicher. Es ist daher von Interesse, zu wissen, wo das Enzym und wo die Glykoside lokalisiert sind. Pfeffer[1] meint, daß jenes im Plasma, diese im Zellsafte lokalisiert seien, eine Ansicht, die er aber in der zweiten Auflage des Buches zugunsten der Guignard'schen Auffassung aufgibt. Johansen (5) fand auf dem Wege makrochemischer Untersuchungen an bitteren Mandeln, daß das Amygdalin im Parenchym, das Emulsin in den Gefäßbündeln lokalisiert sei.

Von solchen Anschauungen ausgehend, suchte sich Guignard über die Verteilung des Glykosids und des spaltenden Enzyms in Kirschlorbeerblättern klar zu werden. Er fand in den Gefäßbündelscheiden mittels der allgemein gebräuchlichen Eiweißreaktion einen proteinartigen Körper neben einem Gerbstoff. So stellte er Rötung mit Millon'schem Reagens und Violettfärbung mittels Biuretreaktion fest, wobei die Palisadenzellen immer nur eine ganz schwache Eiweißreaktion zufolge ihres Plasmagehaltes gaben. Mir ist es niemals

[1] Pflanzenphysiologie, 1. Aufl., 1. Teil, p. 307.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

gelungen, mit Millon'schem Reagens eine Rötung besagter Zellen hervorzurufen oder mit $CuSO_4$ und KOH Violettfärbung zu erzielen. Die beste Farbe, die ich erzielte, war eine gelbbraune, respektive grüne oder kupferoxydulrote. Desgleichen kann man konstatieren, daß die Palisadenzellen ebenso starke oder fast gleiche Reaktion geben wie die Gefäßbündelscheiden. Daß aber auch viele Schwammparenchymzellen mit obigen Reagentien sich färben, hat Guignard völlig übersehen. Demnach ist die Ansicht, daß der reagierende Körper ein Protein sei und nur in den Gefäßbündelscheiden lokalisiert sei, gänzlich hinfällig. Es handelt sich vielmehr um Gerbstoffreaktionen, die auch andere Elemente als die Scheiden geben. Daß aber die Gefäßbündelscheiden und viele Schwammparenchymzellen einen Eiweißkörper enthalten, geht aus ihrem sonstigen Verhalten, nicht aber aus dem hervor, das sie auf Zusatz obiger Reagentien zeigen. Hervorzuheben sind starke Lichtbrechung, Koagulation durch Kochen und Analogie mit den später noch zu besprechenden Spezialzellen im Stamme.

Daß aber dieses Eiweiß ein blausäureabspaltendes Enzym »ist«, kann Guignard mit seiner Methode nicht glaubhaft machen.

Zum Belege dieser Behauptung folgende Stelle aus seiner Arbeit (l. c., p. 479):

»Parmi d'autres expériences susceptibles de le demontrer et qu'il serait trop long d'exposer ici en détail, la plus probante consiste à isoler par dissection sous le microscope les cellules de la gaine et à les mettre en contact, à la température convenable, d'abord avec une solution d'amygdaline, ensuite avec une solution d'émulsine: dans le premier cas seulement il se forme de l'acide cyanhydrique, ce qui montre que ce sont bien celles qui renferment l'émulsine et rien que l'émulsine. Par contre en opérant avec parenchym foliaire bien débarrassé de toute cellule appartenant à la gaine, on constate qu'il ne renferme que l'amygdalin.«

Nach Guignard enthalten die Gefäßbündelscheiden und nur diese Emulsin und das Blattparenchym nichts als Amygdalin. Doch ist es gänzlich unverständlich, wie eine Isolierung der Gefäßbündelscheiden und eine Trennung des Parenchyms durch eine Sektion unter dem Mikroskop möglich ist. Ebenso-

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

wenig ist einzusehen, wie Guignard in solchen Präparaten HCN nachwies, da er leider die verwendete Reaktion nicht namhaft gemacht hat. Daß das Blattparenchym wahrscheinlich die Blausäureglykoside enthält, geht aus dem Destillationsverfahren zur Gewinnung von Kirschlorbeerwasser hervor, daß aber das in den Gefäßbündelscheiden eingelagerte Eiweiß nichts als Emulsin ist, bleibt wohl nur eine Vermutung.

Übrigens ist es nicht richtig, daß die Gefäßbündelscheiden nur auf Amygdalinzusatz und das Parenchym nur auf Emulsinzusatz Blausäure entwickelt, wie wir oben erfahren haben. Träte aber das Emulsin durch die Schnittverletzung in die Parenchymzellen, respektive die Glykoside in die Gefäßbündelscheiden, dann müßte das auch bei Guignard's Präparaten der Fall gewesen sein. Daß aber von einer Enzymwirkung überhaupt nicht die Rede sein kann, geht aus dem Umstande hervor, daß nicht zu allen Zeiten der Blausäuregehalt der gleiche ist, obwohl der Gehalt an Blausäureglykosiden innerhalb so geringer Zeitintervalle der gleiche ist.

Merkwürdig ist, daß Bücher wie Pfeffer's Pflanzenphysiologie, 2. Auflage (p. 495), Czapek's Biochemie, 2. Bd. (p. 255), Euler's Chemie der Pflanzen, II (p. 59), Guignard's Ansicht rückhaltlos übernahmen.

Es bleibt nur noch übrig, die Lokalisation der CNH in den Blattrippen zu beschreiben. Hier enthält der Bast immer am meisten CNH, desgleichen die Bastmarkstrahlen (Fig. 1). In sehr blausäurereichen Blättern findet sich auch im Collenchym sehr viel Cyanwasserstoffsäure, wie die Figur zeigt, und in solchem Falle läßt sich die Quecksilberausfällung bis zu den Tüpfelwänden verfolgen. Das Holz enthält mit Ausnahme der Markstrahlen keine CNH. Am reichsten an Blausäure sind aber immer, sowohl in den Mittelrippen als auch in den Blattnerven, die parenchymatischen Gefäßbündelscheiden. Doch ist auch in der Blattrippe der Gehalt an Blausäure abhängig von der vorausgegangenen Belichtung.

Bemerkt sei hier noch, daß man mittels der Treub'schen Komparationsmethode selten Bläuung in den Mittelrippen erhält, da die Bürstenhaare meistens die dicke Epidermis nicht durchdringen, was auch Treub bei den von ihm untersuchten

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Pflanzen fand. Schnitte von gebläuten Blattstückchenrändern zeigen aber ziemlich gute Lokalisation.

B. Beobachtungen an Zweigen.

Hier stimmen die Befunde an unserer Pflanze fast vollständig überein mit denen Treub's. In Berlinerblaupräparaten findet man vor allem eine starke Bläuung des Bastteiles, weniger der Rinde. Desgleichen findet man Bläuung, wenngleich sehr schwache, im Protoxylem, was Treub aber nicht hervorhob. Eine genaue Lokalisation erhält man jedoch nur mit Mercuronitrat.

Starke Schwärzung findet man in der Epidermis, in den darauffolgenden Rindenzellen, im Peridem und in einzelnen Rindenzellreihen, von denen im nächsten Punkte dieser Arbeit gesprochen werden soll. Auch hier tritt die Schwärzung der Chlorophyllkörner klar zutage. Bast und Cambium sind sehr blausäurereich. Bei den Bastfasern ist es sehr schwer zu entscheiden, ob sie Blausäure enthalten oder nicht, da sie sehr stark verdickt sind; doch scheint in den jungen, weniger verdickten, Blausäure vorzukommen. Übereinstimmend mit Treub's Befunden erscheinen die Siebröhren und Geleitzellen im Baste sehr blausäurereich. Doch gelingt es auch mit der Mercuronitratprobe schwer, ein schönes Reaktionsbild zu erhalten, da diese Elemente sehr enge Lumina besitzen und durch die entweichende CNH eine mehr oder weniger einheitliche Schwärzung des Bastes und Cambiums erzielt wird.

Greshoff fand bei der makrochemischen Analyse des Holzes von *Pangium edule* Blausäure. Treub gelang der Nachweis der Blausäure im Holze nur auf einem Umwege. Ließ er nämlich einen beblätterten Ast welken, dann fand er Blausäure in den Holzmarkstrahlen, nicht aber in völlig frischen Zweigen. Dieses Verhalten erklärte er sich so, daß das Holz den durch das Welken bewirkten Wasserverlust aus den Markstrahlen deckt und diese hinwieder ihren aus der Rinde her decken. Mit dem Wasserstrome wandere dann die Blausäure in die Markstrahlen.

Daß aber ein Transport der freien oder gebundenen Blausäure durch passives Mitreißen mit dem Wasserstrome nicht

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

möglich ist, geht aus Guignard's (6) Propfversuchen an Blausäurepflanzen hervor. Warum Treub das eine Mal Reaktion erhielt das andere Mal nicht, bedarf der Aufklärung.

Auch beim *Prunus Laurocerasus* findet man mittels der Berlinerblaureaktion nicht eine Spur Blausäure, wohl aber mit Mercuronitrat. Die Fällung ist deutlich, jedoch sehr schwach. Diese Differenz erkläre ich mir aus einer geringeren Empfindlichkeit der Berlinerblauprobe oder damit, daß die von ihr hervorgerufene Bläuung zu schwach ist, um gesehen werden zu können.

Dieser Befund, daß auch die Markstrahlen Blausäure enthalten, stellt sozusagen die Brücke her zwischen dem Baste einer- und dem Protoxylem und Mark andrerseits. Andernfalls wären zwei Systeme vorhanden, die der Verbindung entbehren.

C. Beobachtungen am Vegetationspunkt.

An längsgespaltenen Zweigspitzen, nach der Berlinerblauprobe behandelt, ersieht man im Baste und im Marke Bläuung, die gegen den Vegetationspunkt zu immer intensiver wird. Auch die kleinen neugebildeten Blättchen zeigen die Reaktion mit besonderer Stärke. Bei diesen braucht man gar keine Verletzung mit der Bürste anzuwenden, da die Reagentien von selbst eindringen. Dabei tritt, wenn auch nicht in der ganzen Blattfläche, so doch auf der Unterseite der mittleren Blattrippe und dem Grunde der Nerven eine sehr starke Bläuung ein. Aber nicht nur die Nerven, sondern die ganze Lamina der jungen Blätter ist überaus blausäurereich, wie man mittels der Verletzungsmethode nachweisen kann.

Um aber die Lokalisation der Blausäure in dem Vegetationspunkte zu studieren, verwendet man mit gutem Erfolge das Mercuronitrat. Obgleich, wie es scheint, alle Elemente in der Nähe des Vegetationspunktes Blausäure in ziemlich großer Menge enthalten, so findet man doch einzelne Zellen oder vielmehr Zellreihen, die sich durch einen größeren Blausäuregehalt auszeichnen (Fig. 5). Im frischen Zustande erscheinen sie sehr stark lichtbrechend und homogen; nach dem Erhitzen aber koaguliert der Inhalt. Ich vermute, daß sie neben sehr viel

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

eisengrünendem Gerbstoff, worüber später noch gesprochen werden soll, einen eiweißartigen Körper enthalten. Freilich, beweisen kann ich diese Ansicht nicht, denn alle Eiweißreaktionen schlagen aus oben angeführten Gründen (p. 42) fehl oder sind nicht eindeutig. Manchesmal erhält man beim Erhitzen der Biuretreaktion eine bläulichrote Färbung, welche aber nur der Laugenwirkung auf den Gerbstoff zuzuschreiben ist. Denn dieselbe Reaktion tritt auch ohne Kupfervitriol ein. In den meisten Fällen aber erhält man eine ausgesprochene Grünfärbung des Gerbstoffes durch das $CuSO_4$ oder Fehlingsche Reaktion, was eher auf einen Zuckergehalt dieser Zellen zurückzuführen ist. Die Meinung, daß obige Zellen Eiweiß enthalten, beruht also fast ausschließlich auf Vermutung.

Diese Zellen scheinen also den »Spezialzellen« in *Pangium edule* zu entsprechen, nur daß diese keinen Gerbstoff enthalten. Analog den Verhältnissen bei dieser Pflanze finden sich die Spezialzellen zahlreich vor in jungen Zweigen, vor allem in der Nähe des Vegetationspunktes, sowohl im Marke als auch in der Rinde (Fig. 5).

Merkwürdig ist der Umstand, daß der Vegetationspunkt selbst weniger CNH enthält als das dahinterliegende Meristem und die Blattanlagen. Je weiter man sich aber vom Vegetationspunkt entfernt, desto seltener werden die Spezialzellen. Zuerst verlieren sie sich im Marke, so daß man in etwas älteren Partien beinahe keine mehr findet. Ständig vorhanden aber sind sie in der Rinde, wie wir oben schon (p. 44) mitgeteilt haben, wenngleich sie in jungen Zweigen häufiger sind als in älteren.

In Übereinstimmung mit Treub findet man auch im Kirschlorbeer, daß die blausäurehaltigen Markzellen immer leben.

D. Beobachtungen an Wunden und Lenticellen.

Ravenna und Zamarani (7) fanden nach der Verletzung von *Sorghum vulgare* eine beträchtliche Erhöhung des Blausäuregehaltes, desgleichen stellte Treub bei Ringelungsversuchen eine starke Anhäufung der Blausäure an der Wundstelle fest, abgesehen von der Anhäufung des Stoffes im ganzen darüberliegenden Stamm. Auch bei unserer Pflanze

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

findet man bei Wunden oder künstlichen Verletzungen an Blättern oder an Zweigen eine erhebliche Erhöhung des Blausäuregehaltes in den umliegenden Geweben. Das gleiche beobachtet man auch bei Lenticellen. In allen diesen Fällen tritt auch eine ganz erhebliche Gerbstoffanhäufung ein, und zwar derart, daß die Gerbstoffanhäufung sich auf einen weiteren Umkreis erstreckt als die der Blausäure.

4. Über die chemische Bindung der Blausäure.

Treub fand bei *Pangium* zweierlei Bindungsarten der Blausäure, eine stabile als Glykosidbindung und eine labile, von der er vermutet, daß es sich um eine Hydrinbindung an einer Ketogruppe handelt. Später begann er an dieser Ansicht zu zweifeln (l. c.), doch führte Jong A. W. R. (8) den exakten Nachweis, daß in *Pangium* tatsächlich zwei Bindungsarten der Blausäure vorhanden sind, eine glykosidische als Gynocardin, das nur durch Einwirkung eines Enzyms CNH abspaltet und eine labile, die ohne Enzym durch alleinige Einwirkung der Reagentien Cyanwasserstoffsäure liefert. Daß nur eine derartige Verbindung mikrochemisch nachgewiesen wurde, wird sich aus dem folgenden ergeben.

In *Prunus Laurocerasus* kommen die zwei Glykoside Prulaurasin und Laurocerasin vor, die isomer sind dem Amygdonitrilglykosid. Bei der hydrolytischen Spaltung mittels Emulsin oder durch Kochen mit verdünnten Säuren geben sie Benzaldehyd, Glukose und Blausäure, während sie beim Kochen mit Alkalien in Mandelsäure und Glukose zerfallen.

Angenommen, die nachgewiesene Blausäure entstünde durch Enzymwirkung auf die Glykoside, dann müßte man Benzaldehyd und Zucker in denselben Zellen, die Blausäure enthalten, nachweisen können, was aber für den Benzaldehyd nicht der Fall ist. Daß aber eine Enzymwirkung geradezu ausgeschlossen ist, geht aus dem verschiedenen Intensitätsgrade des Blausäurenachweises in stark und minder belichteten Blättern hervor, während die Reaktion, da der Glykosidgehalt derselbe bleibt, stets dieselbe Intensität zeigen müßte.

Eine Abspaltung der Blausäure aus den Glykosiden durch Alkalien ist ausgeschlossen, da die Nitrilgruppe an der Stelle

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

der dreifachen Bindung gesprengt wird. Daher ist ein glykosidischer Ursprung der mikrochemisch nachgewiesenen Blausäure unmöglich und es bleibt nur mehr eine Form der Bindung übrig, die labile.

Da die Nitril- und Hydrinbindung ausgeschlossen ist, ist es nicht unmöglich, daß die Blausäure in Isonitrilform $C = N—H$ gebunden ist, indem der hier zweiwertige Kohlenstoff sozusagen noch zwei weitere Valenzen aufklappt

$$R' = C = N—H$$

und mittels derer an irgendeinen Körper gebunden ist.

Da die Glykoside einen aromatischen Kern enthalten, scheint auch ein solcher der labilen Verbindung zugrunde liegen zu können.

III. Nachweis eines Gerbstoffes.

In allen Organen von *Prunus Laurocerasus* läßt sich im engsten örtlichen Zusammenhang ein Gerbstoff nachweisen, der wahrscheinlich den aromatischen Kern für die labile Blausäureverbindung liefert. Die Übereinstimmung der Lokalisation der Blausäure in den daran reichen Blättern ist so groß, daß man meinen könnte, der oben beschriebene Nachweis der Blausäure mit $Hg_2(NO_3)_2$ werde durch den Gerbstoff hervorgerufen. Daß hier eine Verwechslung sicher nicht vorliegt, ist schon in II, 2, durch eine Reihe von Argumenten bewiesen worden. Von der Richtigkeit meiner Deutung der Mercuronitratprobe als mikrochemische Reaktion für Blausäure kann man sich auch an unausgewaschenen Präparaten überzeugen. In diesem Falle werden die zwischen den blausäurehaltigen Zellen (*BZ* in Fig. p. 40) stehenden Elemente in etwa einem bis zwei Monaten zuerst rosa, dann immer dunkler bis kräftig rot (*GZ* in Fig. p. 40). Wie ich mich überzeugte, handelt es sich hier um eine Gerbstoffreaktion.

Der Gerbstoff wurde nachgewiesen mit Eisenchlorid und Eisensulfat, wodurch er schmutziggrün wird, während er nach Soda- oder Laugezusatz dunkelbraunrot erscheint. Er reagiert sehr leicht mit Kaliumbichromat mit braunroter Farbe.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Was den Lokalisationsnachweis betrifft, so sei auf die Tabelle (p. 38) verwiesen, woraus man die Übereinstimmung der Lokalisation der Blausäure und des Gerbstoffes im allgemeinen ersieht (Fig. 2, 6).

Doch mögen auch einige prinzipielle Unterschiede hervorgehoben sein. Wie schon oben bemerkt wurde, decken sich in blausäurereichen Blättern nicht die Ergebnisse der Gerbstoffreaktionen mit denen des Blausäurenachweises, sondern es scheinen gerade die CNH-reichsten Zellen keinen Gerbstoff zu besitzen. Am meisten fällt diese Nichtübereinstimmung der beiden Reaktionen in den Palisadenzellen von blausäurearmen Blättern auf, da hier der Gerbstoff in derselben Quantität wie in den HCN-reichen Blättern zu finden ist. Betont muß auch werden, daß sich der Gerbstoff nur im Zellsaft und die Cyanwasserstoffsäure nur im Plasma lokalisiert findet.

Die meisten, nicht alle Schwammparenchymzellen, enthalten den Gerbstoff, desgleichen die parenchymatischen Gefäßbündelscheiden. Wie man aus der Tabelle ersieht, decken sich hier die CNH- und Gerbstoffreaktion vollständig, höchstens daß mehr Gerbstoffzellen als Blausäurezellen vorkommen. Übereinstimmend mit dem größeren Blausäuregehalt in der unteren Epidermis im Vergleich zur oberen erhält man auch in jener stärkere Gerbstoffreaktionen als in dieser.

In den Gefäßbündeln deckt sich die Mercuronitratprobe vollständig mit der Gerbstoffprobe, was mit Guignard's Befunden (l. c.) im Widerspruche steht.

Vollständig übereinstimmend sind die Reaktionen in den Achsenorganen. Die Spezialzellen in den Zweigspitzen (Fig. 5), in den Knospen, im Stamme (Fig. 3, 4) und im Mark wurden bereits besprochen. Übereinstimmend mit der Lokalisation der Blausäure ist wieder die geringere Anhäufung des Gerbstoffes im eigentlichen Vegetationskegel gegenüber den dahinterliegenden Geweben. Bezüglich der Spezialzellen im Mark und in der Rinde sei erwähnt, daß man solche ohne CNH-Gehalt, aber niemals ohne Gerbstoff findet. Ein gleiches Verhalten zeigt sich in den Markstrahlen.

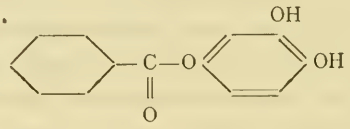
Während man aber eine sehr auffällige Abhängigkeit des Blausäurenachweises von der vorausgegangenen Blattbelichtung

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

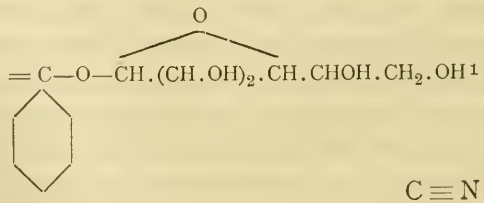
konstatieren kann, ist dies für den Gerbstoff nicht möglich, da man fast immer gleich intensive Reaktionen bekommt, wie auch immer die Beleuchtung gewesen sein mag.

Die Notwendigkeit der Annahme einer Blausäurebindung an einen aromatischen Rest, die Übereinstimmung der Lokalisation der Blausäure und des Gerbstoffes in den Organen des Kirschlorbeers und die Vergleichung der Konstitutionsformel des Laurocerasins, respektive des isomeren Amygdonitrilglukosides mit den Gerbstoffkernen lassen eine Herkunft des aromatischen Kernes der Glykoside aus dem nachgewiesenen Gerbstoff möglich erscheinen.

Überlegt man, daß der Gerbstoff die Liebermann'sche Probe in der von H. Mayer modifizierten Form mit H_2SO_4 und Amylnitrit nicht gibt, daß die Eisenchloridreaktion schmutzig-grün ist, eine Farbe, die auf Sodazusatz über Blau in Braunrot übergeht, was für zwei Hydroxyle in der Orthostellung spricht und das Nierstein'sche Gerbstoffkernschema berücksichtigt, so erhält man einen Körper etwa folgender Konstitution:



Dieser Körper aber ergibt durch eine Ringspaltung mit gleichzeitiger Addition von drei Wassermolekülen den dem Amygdonitrilglykosid zugrunde liegenden Rest:



$$C \equiv N$$
$$|$$

Der Ersatz der = O-Bindung zu $H—C(C_6H_5)(C_6H_{11}O_6)$ läßt vermuten, daß hier sofort die Blausäure substituiert wird,

[1] V. v. Richter, Organische Chemie, 2. Bd.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

und zwar zuerst in Isonitrilform, wie unter II, 4, vermutet wurde. Wenngleich diese Anschauung rein hypothetisch ist, so läßt sie doch einen Zusammenhang des Glykosidaufbaues mit dem nachgewiesenen Gerbstoff als möglich erscheinen.

IV. Anhang.

Transport der Blausäure und ihre Funktion.

Nach sehr sonnigen Tagen bemerkt man das Blatt voll von CNH, und zwar Palisaden, Schwammparenchym, Gefäßbündel und deren Scheiden. Nimmt die Beleuchtung ab, dann verschwindet die Blausäure zuerst aus den Palisaden, dann aus dem Schwammparenchym und ganz zuletzt erst vermindert sie sich in den Gefäßbündelscheiden und im Baste der Rippen. Eine Verminderung des Blausäuregehaltes infolge von Beleuchtungsabnahme konstatiert man auch in den Zweigen.

Gestützt auf die mikrochemischen Befunde und auf die Analogien mit *Pangium edule* scheint mir die Treub'sche Hypothese plausibel, die ich für *Prunus Laurocerasus* in folgender Art wiedergeben möchte:

Die CNH wird im Chlorophyllkorn gebildet und in den Palisadenzellen noch an den Gerbstoff ad interim gebunden. Diese labile Verbindung wandert dann in die Schwammparenchymzellen zur vorläufigen Ablagerung. Hier wird sie teils zu den Glykosiden umgelagert, die man im Blatte findet, teils zum Aufbau des Reserveeiweißes verwendet, teils durch die Gefäßbündelscheiden und den Bast derselben weggeführt. Tritt durch längere günstige Beleuchtung eine Stauung der Blausäure ein, dann findet man die labile Bindung an ihrem Entstehungsorte in den blausäurereichen Palisadenzellen und auch an den übrigen Blattelementen, woraus sie erst nach Ablauf der Stauung, sei es durch Glykosidbildung oder Wegführung, verschwinden.

Daß die assimilierte Blausäure nicht nur als Glykosid, sondern auch in labiler Form wandert, würde zu vermuten sein aus dem reichlichen Auftreten der CNH im Phloem nach sonnigen Tagen. Vom Baste wird dann die Blausäure mittels der Markstrahlen einerseits in das Protoxylem und Mark, andrerseits in die Rinde zur Ablagerung für allgemeinen oder lokalen Bedarf befördert. Für die Ansicht, daß die Blausäure in labil gebundener Form wandert, würde auch der Umstand sprechen, daß auch im Stamme eine Abhängigkeit des Reaktionsausfalles von der vorhergehenden Beliehtung des Blattes zu konstatieren ist.

Da man sich ohne eine eingehende physiologische Untersuchung unmöglich eine Vorstellung von der Funktion der Blausäure machen kann, muß ich hier darauf verzichten, auf diese gewiß interessanten Probleme einzugehen.

Nun erübrigt mir nur noch die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Hans Molisch, in dessen Institute die Arbeit aus-

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

geführt wurde, für die Zuweisung des Themas und Anregung dazu, sowie für die mannigfache Unterstützung und Förderung, die er mir während der Ausführung gewährte, meinen aufrichtigen Dank auszudrücken.

Zusammenfassung.

1. In vorliegender Arbeit wurde, anschließend an Treub's mikrochemischen Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in allen Organen von *Pangium edule*, das lokalisierte Vorkommen der Blausäure in *Prunus Laurocerasus* erwiesen. Dazu wurde, da sich bei dieser Pflanze die Berlinerblauprobe als nicht hinreichend empfindlich erwies, der für makrochemische Untersuchungen bekannte Nachweis der Blausäure mittels Mercuronitrat für mikrochemische Zwecke ausgearbeitet.

Damit war es möglich, einen genügend deutlichen Lokalisationsnachweis des Stoffes im Blattparenchym zu erzielen, was Treub wegen allzu großen CNH-Gehaltes seiner Versuchspflanze nicht gelang. Zunächst konnte die Abhängigkeit des Blausäuregehaltes von der vorangegangenen Belichtung bestätigt werden, dagegen nicht Guignard's Ansicht über die Verteilung der Blausäureglykoside und des Emulsins in den Blättern. Ein höchst auffallendes Bild boten durch die Mercuronitratprobe die Chlorophyllkörner, an denen das dunkel erscheinende, ausgefällte Quecksilber in Form winziger Kügelchen hing, so daß es in der Tat den Eindruck machte, als ob die Chlorophyllkörner des Palisadengewebes der Bildungsherd der nachgewiesenen Blausäure wären.

Übereinstimmend mit Treub wurde die Lokalisation der Blausäure in der Epidermis, dem Periderm und Baste des Stammes nachgewiesen, desgleichen in den Spezialzellen im Marke und in der Rinde, abweichend von seinen Befunden, auch ein ständiger Blausäuregehalt der Holzmarkstrahlen aufgedeckt.

In Übereinstimmung mit Treub's Befunden steht auch die Feststellung von CNH-Anhäufung in der Umgebung von Wunden und, wie ich finde, auch in der Umgebung von Lenticellen. Dabei wurde versucht, klarzulegen, daß die mikro-

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

chemisch nachgewiesene Blausäure nicht glykosidischen Ursprungs ist, sondern ohne Enzymwirkung aus einer labilen Verbindung abgespalten wird.

2. Die vorliegende Arbeit bringt weiter den Nachweis des lokalisierten Vorkommens eines Gerbstoffes, dessen Existenz mit den gewöhnlichen mikrochemischen Mitteln sichergestellt wurde. Das Auffallende bei den einschlägigen Experimenten war nun die bis auf geringe Abweichungen übereinstimmende Lokalisation dieses Gerbstoffes mit der Blausäure, so daß die Annahme nahe lag, die aufgefundenen Gerbstoffzellen seien als die Bildungsherde des oben erwähnten, zur Blausäureabspaltung notwendigen, aromatischen Kernes anzunehmen.

3. Die vorliegende Arbeit bringt endlich auf Grund der oben angeführten mikrochemischen Ergebnisse eine Hypothese über Blausäurebildung und Wanderung.

Literaturverzeichnis.

1. Gola G., L'acidocyanidrico e i glycosidi cyanogenetici nel regno vegetale, supplemento annuale all' Enciclopedia dei Chimica. XXIII, 1907.
   Schär, Über die Verbreitung des Cyanwasserstoffs und der Saponine in der Pflanzenwelt. Schweiz. Wochenschr. d. Chem. u. Pharm., 1910, p. 645.
   Czapek, Biochemie, 1. Auflage, 2. Bd., p. 246, Literaturverzeichnis.
2. Treub, Sur la localisation et le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique de le Pangium edule Reinw. Ann. d. Jardin Bot. de Buitenzorg, Vol. XIII, p. 1—89.
3. Guignard L., Sur la localisation des principes, qui fournissent l'acide cyanhydrique. Comptes rendus, t. CX, p. 477.
4. Treub, Nouvelle recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les Plantes vertes I, II, III. Ann. d. Jard. Bot. de Buitenzorg, Série 2, Vol. IV, p. 86—147, Vol. VI, p. 79—106, Vol. VIII, p. 85—118.
5. Johansen W., Just's Jahresbericht, 1888, Bd. I, p. 55; Chem. Zentralbl., 1888, Bd. I, p. 664; Annales soc. nat. (7), t. VI, p. 118 (1887). Zitiert nach Czapek, Biochemie, II. Bd., p. 255.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

6. Guignard L., Physiologische Untersuchungen über die Pfropfung der Blausäurepflanzen. Annales des sciences naturelles Botanique, 1907, sér. 9, t. 6, p. 261—305. Ref. Just's Jahresbericht.
7. Ravenna C. und Zamarani M., Sulle variazioni del contenuto in acido cianidrico causato da lesione traumatiche nel Sorghum vulgare (Staz. spezim. agr. XLII (1909), p. 397—407. Ref. d. Bot. Zentralbl., CXIV (1910), p. 30.
8. Jong A. W. R., Einige Bemerkungen über die Blausäurepflanzen. Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg, 1908, sér. 2, vol. VII, p. 1—17. Ref. Just's Jahresbericht, 1908, 3. Bd., p. 550.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Figurenerklärung.

Fig. 1. Querschnitt durch die Blattmittelrippe von *Prunus Laurocerasus*. Blausäurenachweis mittels Mercuronitrat. Die dunklen Zellen, hauptsächlich die Gefäßbündelscheiden enthalten Blausäure.

Fig. 2. Ein gleicher Querschnitt zeigt die Verteilung eines Gerbstoffes.

Fig. 3. Querschnitt durch die Rinde von *Prunus Laurocerasus*. Die dunklen Zellen sind Blausäurespezialzellen und zeigen in dieser Figur die Gerbstoffreaktion.

Fig. 4. Das gleiche im Längsschnitt.

Fig. 5. Blausäurespezialzellreihen unter dem Vegetationspunkte, welche die Gerbstoffreaktion zeigen.

Fig. 6. Blattquerschnitt. Die dunkleren Zellen enthalten einen Gerbstoff (vgl. Textfigur, p. 40).

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Fig. 1

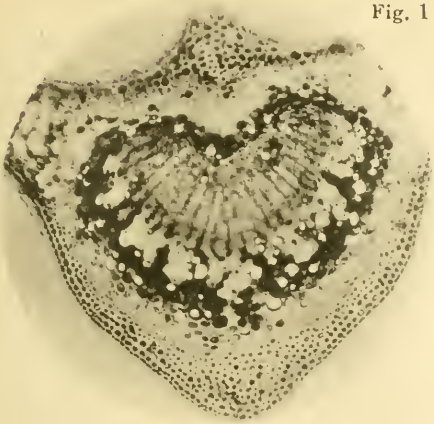


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

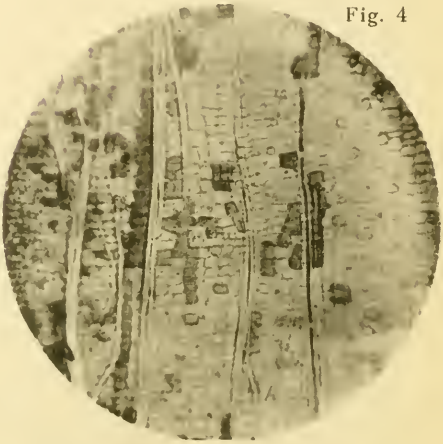


Fig. 5

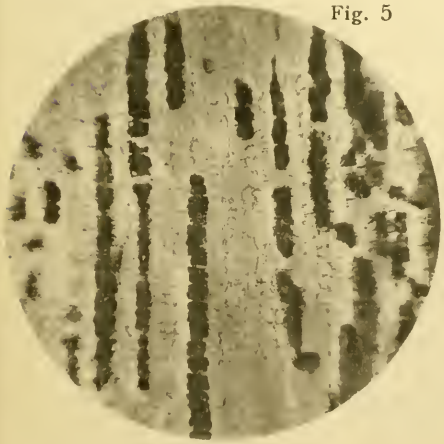
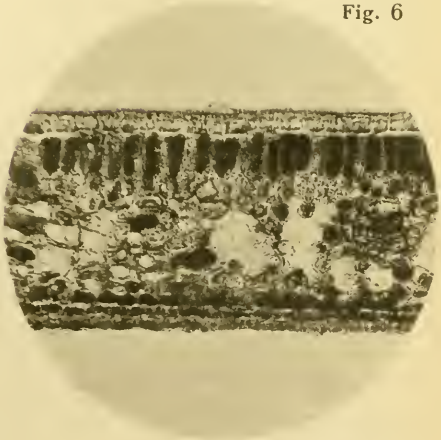


Fig. 6



Vouk u. Peche photogr. Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien.